

북쪽말뚝성게 (*Strongylocentrotus intermedius*) 배아 (embryo)를 이용한 중금속에 대한 민감도 비교

류태권, 황인영¹, 이택건², 윤준현, 이창훈^{3,*}

국립환경과학원 위해성평가과, ¹인제대학교 자연과학대학 환경공학부,
²한국해양연구원 남해연구소, ³(주)네오엔비즈 부설 환경안전연구소

Effects of Cadmium, Copper, Chromium, Nickel, Silver, and Zinc on the Embryonic Development of the Sea Urchin, *Strongylocentrotus intermedius*

Tae-Kwon Ryu, In-Young Hwang¹, Taek-Kyun Lee²,
Junheon Yoon and Chang-Hoon Lee^{3,*}

Risk Assessment Division, NIER, Kyungseo-dong, Seo-gu, Incheon 404-708, Korea

¹School of Environmental Science & Engineering, Inje University

²South Sea Research Institute, KORDI

³NeoEnBiz Co., Deawoo Technopark A-1306, Dodang-dong, Bucheon,
Gyeonggi-do 420-806, Korea

ABSTRACT

Discharged materials from the point or non-point source are released into the sea, and as the results, marine environment is directly affected. We must estimate the impacts of contaminants to marine pollution rapidly and accurately. Therefore, it is needed on early warning system for appreciating marine environmental impacts, and required a bioassay to evaluate abnormal changes. A bioassay test was developed to examine the effects of heavy metal contaminants on the early life stages of the marine animals. We have studied the effects of metals on early development of a sea urchin species, *Strongylocentrotus intermedius*. *S. intermedius* embryos were tested with six metals (Cu, Ag, Zn, Cd, Cr, Ni) and showed the highest sensitivity to Cu as well as the lowest sensitivity to Cd. The order of biological impact for metals was Cu > Ag > Ni > Zn > Cr > Cd. In accordance with the results, sea urchins embryos can provide biological criteria for seawater quality assessment. The sensitivity of developmental bioassay with *S. intermedius* is at intermediate level among marine organisms commonly used in aquatic bioassays. And this sea urchin can be routinely employed as a test organism for ecotoxicity assays.

Key words : heavy metals, *Strongylocentrotus intermedius*, embryonic development, bioassay, ecotoxicity

※ To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-2-863-4744, Fax: +82-2-863-4745

E-mail: chlee@neoenbiz.com

서 론

많은 생물들은 점오염원인 하수나 산업폐수와 비점오염원인 항구, 빗물, 농업하수로부터 배출된 물질들에 의해 영향을 받는다. 또한 이러한 오염물질들은 수산업이나 레저활동지역의 환경에 영향을 주고 있다. 그러므로 사람이나 해양생물들에게 악영향을 미치기 전에 경고를 줄 수 있는 조기경보시스템이 필요한 현실이다(Ringwood, 1992). 조기경보시스템으로 많이 이용되는 생물검정법은 어떠한 물질이 살아있는 생물에 미치는 영향을 알아보는 시험법을 나타낸다. 현재 해양 환경을 평가하기 위한 생물 검정에는 많은 해양 척추·무척추 동물들이 이용되고 있다(Geffard *et al.*, 2001; Damásio *et al.*, 2008; Girotti *et al.*, 2008; Soupilas *et al.*, 2008).

오염물질 중 산업 폐기물의 중요한 성분인 중금속은 생물에게는 구성성분 역할을 하지만, 환경에서 먹이 사슬을 따라 상위단계로 이동하면서 농축되고, 미나마타병이나 이타이이타이병과 같이 여러가지 질병을 일으키므로 관심을 갖는 중요한 물질이다. 그렇기 때문에 이러한 중금속이 미치는 영향과 생물종들에 대한 연구는 환경관리계획에 있어 가장 기본적인 항목이라 할 수 있다(Thatheyus and Selvanayagam, 1999). 또한, 이런 중금속은 생물의 유생에게 직간접적으로 영향을 주어 기형을 일으키기도 한다(Calevro *et al.*, 1998). 성체 역시 오래 전부터 생물검정에 많이 이용이 되고 있는 종들 중 하나이다. 과거로부터 현재까지 성체를 대상으로 한 실험들에서 종말점은 매우 다양하였다. 그러나 국제적으로 채택된 최종반응은 생식세포의 수정과 수정란의 발생 두 가지이다(OECD, 1998). 이 방법은 짧은 시간 내에 실험을 종료 할 수 있으며, 물질의 농도에 대한 민감도에 있어 생식 세포 및 수정란 노출 실험이 다른 실험보다 훨씬 높고, 실험 방법도 간단하여 현재도 많이 이용이 되고 있다(Anne Bättger *et al.*, 2001; Kobayashi and Okamura, 2004; Manzo, 2004).

현재 ASTM, USEPA, OECD에서 생물검정용으로 사용되는 종은 *Arbacia punctulata*, *Dendroaster excetricus*, *Echinocardium cordatum*, *Lytechinus pictus*, *Strongylocentrotus droebachiensis*, *Strongylocentrotus purpuratus* 6종이며 (ASTM, 1995; USEPA, 1995; OECD, 1998), 이들 중 세 기관 모두에서 선정된 종

은 *A. punctulata*, *D. excetricus*, *S. purpuratus* 세 종이다. 그러나 성체 생물검정에 대한 연구가 주로 미국에서 시행되었기 때문에, 주로 미국 연안의 종으로 국한되어 있다. 이에 본 연구에서는 주로 극동아시아 연안에 서식하는 북쪽말뚝성체, *Strongylocentrotus intermedius* 종을 대상으로 하여, 각 화학물질이 성체의 발생이 미치는 영향을 조사하였다.

북쪽말뚝성체는 분류학상 극피동물 문(Phylum Echinodermata), 성체 강(Class Echinoidea), 성체 목(Order Echinoidea), 동근성체 과(Family Strongylocentridae)에 속한다. 성체의 크기는 8 cm 내외로 실험을 위한 정자와 알의 획득이 용이하고, 생식란 역시 양적으로 많이 가지고 있으며, 수정막이 뚜렷이 생성되기 때문에 수정란과 비수정란 구분 역시 용이하다. 북쪽말뚝성체 (*S. intermedius*)는 조간대에서 수심 35 m 지역까지 서식한다. 주로 우리나라 동해안과 일본 북부에 서식하는 한대성 종으로 새치성체라고도 알려져 있다. 산란기는 대개 9월에서 12월인데 10~11월에 가장 활발히 산란한다. 또한 1회 산란양도 약 200~500만개 정도로 많이 산란하기 때문에 실험에 이용하기에도 유용한 장점을 가지고 있다.

본 연구는 북쪽말뚝성체를 이용한 해양독성 시험법을 체계적으로 개발하기 위한 연구의 한 과정으로 먼저 선행연구에서 최적의 발생조건에 대하여 조사하였고(Ryu *et al.*, 2007), 그 조건을 바탕으로 우리 주변의 환경시료나 산업폐수 속에 많이 존재하면서, USEPA에서 Priority pollutant로 규정되어 있는 중금속 중에서 구리, 아연, 은, 카드뮴, 크롬, 니켈을 북쪽말뚝성체의 유생에 단기간 노출시켜 그 독성 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험생물의 준비 및 수정란 준비

실험생물인 북쪽말뚝성체 (*S. intermedius*)의 성체는 강원도 고성 앞바다 조하대에서 채집하였다. 실험실로 옮긴 성체 성체는 자연적인 산란을 억제하기 위하여 18°C로 유지하여 순치하였다. 준비된 성체로부터 알과 정자의 방출을 유도하기 위하여 0.5 M KCl 1 mL을 주입한 후 체내에 골고루 퍼지도록 흔들어주었다. 수컷은 생식공에서 방출된 흰색의 정

Table 1. Concentration of definitive test for sea urchin developmental bioassay

Chemical	Concentration ($\mu\text{g/L}$)		
	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3
Cu	6.25~400	2.5~160	1~64
Ag	6.25~400	2.5~160	4.9~300
Zn	6.25~400	5~320	4.69~300
Cd	6,250~400,000	2,500~160,000	4,900~300,000
Cr	62.5~4,000	46.9~3,000	1,500~4,000
Ni	1~1,000	1~1,000	1~1,000

자를 소형 원심분리용 튜브(1.5 mL)에 모아 냉장보관(4°C)을 하였다. 암컷은 생식공에서 노란색 알을 방출하므로 100 mL 비커에 여과해수를 가득 채운 뒤 생식공을 아래로 향하게 하여 올려놓아 방출된 알이 비커 바닥으로 가라앉게 하였다. 채집된 알과 정자는 혼합하여 약 20분간 방치함으로써, 수정을 유도하였다. 성게는 수정막이 뚜렷하게 형성되므로 수정란과 비수정란의 구분이 용이하였다(Cherr *et al.*, 1987; Chapman, 1992). 수정란은 $125\ \mu\text{m}$ 의 망목의 나일론 망을 통과시켜 이물질과 비정상적인 난을 제거하고, $50\ \mu\text{m}$ 망목의 나일론 망을 이용하여 약 7차례 정도 세척하여 정자 및 작은 이물질들, 그리고 크기가 작은 미성숙란을 제거하였다. 수정란은 현미경으로 관찰을 하였으며, 80% 이상 수정이 이루어졌을 경우에 실험에 사용하였다.

2. 실험용액 준비

실험에 사용된 중금속은 6종이며, 은(AgNO_3 , 99%), 카드뮴(CdCl_2 , 99%), 크롬($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 99%), 구리($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 99%), 아연(ZnCl_2 , 98%) 그리고 니켈(NiCl_2 , 99%)을 사용하였다. 모든 중금속들은 A.C.S. reagent grade였고, Aldrich사에서 구입하였다. 실험 원액들은 실험시작 하루 전에 중금속염을 3차 증류수로 녹여 준비하였다. 민감도 결정 실험(Definitive test, 이하 DF test) 농도구는 원액을 희석하여 결정된 농도보다 10배 더 높은 용액으로 준비하였고, 농도구배는 1/2배 간격으로 희석하여 사용하였다. 각 실험간의 변이를 최소화하기 위하여 실험은 3번 반복하였다. 각각 중금속 농도는 염분농도가 32 psu인 FSW (Filtered Seawater) 에 중금속 실험원액을 희석하여 준비하였다.

3. 실험조건

북쪽말뚝성게 발생과정에 있어 영향을 보기 위하여 농도범위결정시험을 통하여 범위를 결정하였고, 결정된 범위에서 더 세분화하여 민감도 결정 실험을 하였다. 최적의 발생조건을 유지하기 위하여 발생온도는 15°C , 시간은 72 hr, 밀도는 100 cells/mL, 염분농도는 32 psu로 하였다(Ryu *et al.*, 2007). 실험은 Table 1의 농도 범위에서 각각 3반복으로 실시하였다.

각각의 실험에서 여과해수로 대조실험을 실시하였다. 대조구는 염분농도 변화에 대한 영향을 배제해 주기 위해 실험구와 같은 조건을 맞춰주기 위해 FSW 4.5 mL+DI 0.5 mL을 사용하였다. 유생의 밀도는 5,000 eggs/mL 밀도로 하여 100 μL 를 5 mL에 넣어 100 eggs/mL로 유지시킨 후, 72시간 동안 노출하였다.

발생이 끝나면 10% 중성 포르말린 100 μL 로 고정을 한 후, 현미경으로 관찰을 하였다. 스포이드로 일정량을 취해 Sedgewick-Rafter Chamber (1 mL)에 옮긴 후, 최소 100개체를 개수 하였다. 100개체 중 정상적으로 발생한 개체와 그렇지 못한 개체들을 구분하여 개수를 하였고, 결과는 전체 중 정상적인 플루테우스 유생과 비정상적인 유생의 비로 나타났다. 비정상적인 유생에는 미수정란, 발생 과정이 늦어진 유생, 변형된 플루테우스 유생은 비정상 유생으로 분류하였으며, A자 형태의 모양을 하고 있었으며, 앞뒤에 각각 1쌍의 팔이 있는 것을 정상적인 플루테우스 유생으로 간주하였다. 정상적인 플루테우스 유생의 백분율로 계산된 발생률로 EC_{50} 을 계산 하였다. EC_{50} 은 정상적인 플루테우스 유생의 발생률을 백분율로 계산하여 산출하였다. EC_{50} 은 TOXSTAT (Gulley and WEST Ind., 1996)프로그램의 Trimmed

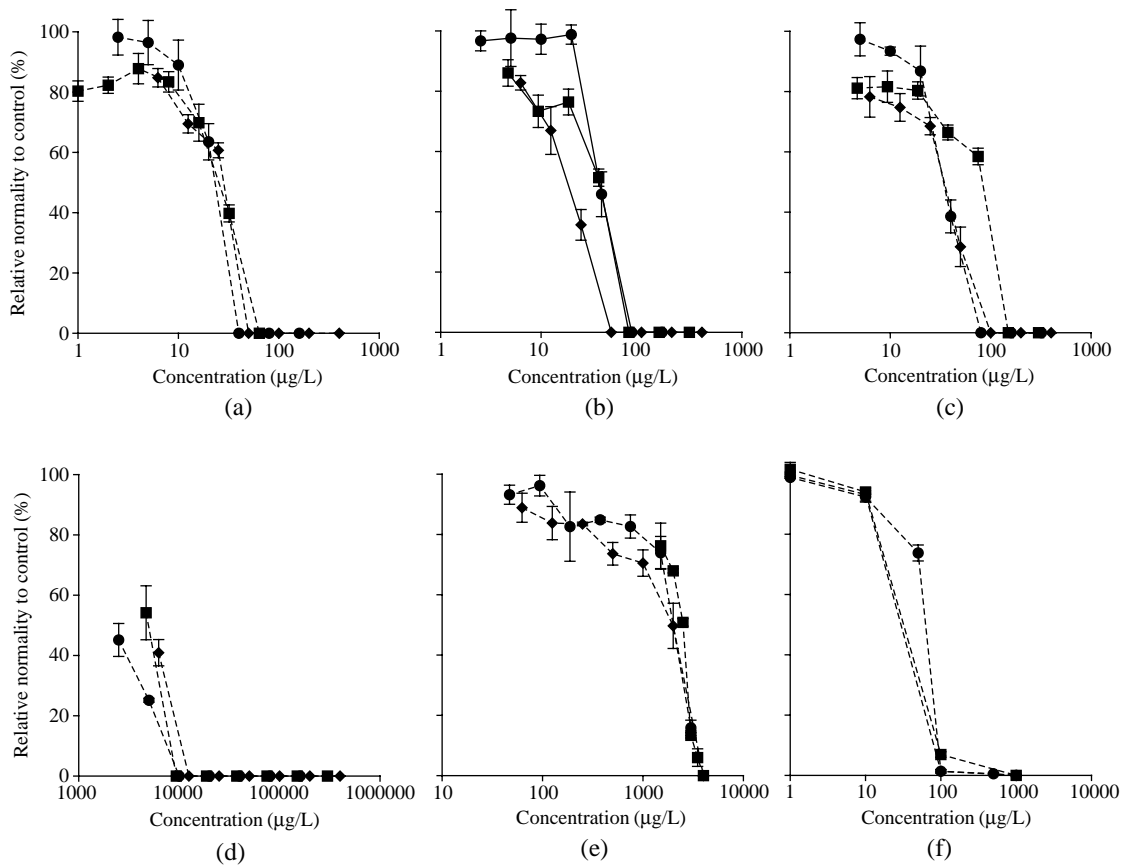


Fig. 1. Change in the proportion of normal pluteus of sea urchin (*S. intermedius*) with increasing metals concentration. (A) Cu, (B) Ag, (C) Zn, (D) Cd, (E) Cr, (F) Ni (◆-Test1, ●-Test2, ■-Test3)

Spearman-Kärber method (Hamilton *et al.*, 1977)를 이용하여 계산하였다.

결과 및 고찰

대조구에서 수정률(mean±SD)은 첫번째 실험에서 93.3 ± 1.4 , 두번째 실험에서 93.9 ± 1.5 , 세번째 실험에서 $94.2 \pm 2.0\%$ 이었다. 그러므로 3가지 대조구 모두에서 80% 이상의 수정률을 보였으므로 실험에 사용하기에 적합하였다(USEPA, 1995).

구리는 6.25~400 μg/L의 농도 범위에서 진행된 첫 번째 실험에서는 대조구와 비교했을 때 12.5 μg/L 이상에서 영향을 받기 시작하였고, 2.5~160 μg/L의 범위에서 진행된 두 번째 실험에서는 20

μg/L 이상에서 영향을 받기 시작하였다. 마지막 실험인 1~64 μg/L에서는 16 μg/L 이상에서 비정상 발생이 나타나기 시작하였다(Fig. 1A). 실험 결과에서 계산된 NOEC는 10 μg/L, 세 실험의 평균 EC₅₀은 $25.6 \pm 3.5 \mu\text{g/L}$ 로 나타났다.

은에서는 6.25~400 μg/L, 2.5~160 μg/L, 4.9~300 μg/L의 범위에서 노출한 결과 각각 12.5, 40, 9.37 μg/L의 농도에서 영향을 받기 시작하였다(Fig. 1B). 정상발생 비율을 계산한 결과에서 NOEC는 6.3 μg/L이었으며, 세 실험의 평균 EC₅₀은 $32.1 \pm 9.4 \mu\text{g/L}$ 였다.

아연은 6.25~400 μg/L, 5~320 μg/L, 4.69~300 μg/L의 범위에서는 12.5, 20, 37.5 μg/L의 농도에서 영향을 받기 시작하였다(Fig. 1C). 정상발생 비율을 계산한 결과에서 NOEC는 10 μg/L, 세 실험의 평균

Table 2. Inter-test variability in the EC₅₀s (µg/L) of heavy metals from each development bioassay with *S. intermedius* (Values in parentheses are 95% confidence limits)

Chemical	Experiment 1		Experiment 2		Experiment 3		Mean ± SD	CV (%)
	EC ₅₀	95% C.I.	EC ₅₀	95% C.I.	EC ₅₀	95% C.I.		
Cu	21.6	19.6~23.8	27.3	23.7~31.6	27.9	24.1~32.4	25.6±3.5	13.7
Ag	20.9	18.4~23.7	38.3	35.4~41.5	37.2	30.8~45.0	32.1±9.4	29.3
Zn	38.3	31.5~46.6	34.3	30.9~38.1	75.8	64.1~89.6	49.3±22.6	45.8
Cd	6,200	5,600~6,700	3,100	2,800~3,400	5,800	5,300~6,300	5,000±1,700	34.0
Cr	1,850	1,500~2,200	1,276	1,053~1,547	2,440	2,300~2,600	1,855±582	31.4
Ni	29.3	27.9~30.9	55.1	50.3~60.2	32.3	30.2~34.5	38.9±14.1	36.2

EC₅₀은 49.3±22.6 µg/L였다. 300 µg/L 이상의 고농도에 노출된 시험군에서는 내장 기관이 밖으로 돌출된 형태인 exo-gastrula의 기형으로 발생하는 것이 관찰되었다.

카드뮴은 6,250~400,000 µg/L, 2,500~160,000 µg/L, 4,900~300,000 µg/L의 범위에서는 각각 6,250, 2,500, 4,900 µg/L의 농도에서 영향을 받기 시작하였다(Fig. 1D). 각각의 EC₅₀값은 6,200, 3,100, 5,800 µg/L로 나타났다. 카드뮴은 상대적으로 다른 금속물질 보다 독성값이 낮아 높은 농도에서도 정상발생이 나타났다. 평균 EC₅₀값 역시 5,000±1,700 µg/L로 가장 둔감한 것으로 나타났다.

크롬은 62.5~4,000 µg/L, 46.9~3,000 µg/L, 1,500~4,000 µg/L의 범위에서 실험을 실시한 결과 각각 500, 187.5, 1,500 µg/L의 농도에서 영향을 받기 시작하였다(Fig. 1E). 정상발생 비율을 계산한 결과에서 NOEC는 93.8 µg/L 세 실험의 평균 EC₅₀은 1,855±582 µg/L였다.

니켈은 1, 10, 100, 1,000 µg/L의 범위에서 3회 반복해서 실험을 하였고, 그 결과 정상발생 비율로 산출된 EC₅₀값은 각각 29.3, 55.1, 32.3 µg/L였으며, 평균 38.9±14.1 µg/L였다. NOEC는 10 µg/L였다(Fig. 1F). 또한 저농도에서 기형이라는 형태로 영향을 보여 EC₅₀값이 낮았지만, 고농도에서도 치사율은 낮았다.

시험물질의 노출농도 범위에서 농도가 증가함에 따라 정상발생률은 급격하게 감소하는 경향을 나타내었다. EC₅₀값으로 민감도를 평가하면, 구리의 EC₅₀은 25.63 µg/L로 성게 배아에 있어 가장 민감한 것으로 나타났다. 그러나 카드뮴의 EC₅₀값은 5.02 mg/L로 구리에 비해 200배 이상 높고, 가장 둔감한 물질로 나타났다. 각 중금속에 대한 민감도를 정렬

하면 Cu>Ag>Ni>Zn>Cr>Cd 순서로 나타났다. 다시 말해, 북쪽말뚝성게 배아 발생과정에 있어 카드뮴이나 크롬에 비해 구리와 은에 대한 민감도가 상대적으로 높다고 말할 수 있다(Table 2).

동일한 중금속에 대한 각각 실험이 EC₅₀값에서 차이를 보이는데, 이는 각 실험군이 서로 다른 성체를 이용하였기 때문에 나타나는 결과로 판단되었다. 이러한 차이 때문에 변동계수를 산출하였고, EC₅₀값의 변동계수(Coefficient of Variation, CV) 범위는 약 13.7~45.8%였다(Table 2). 같은 성계종인 *S. purpuratus*의 정자생물검정법에서 나타난 24~52%와 비교하면 개체간의 차이가 작은 것으로 보였다(USEPA, 1995). 이렇게 변동계수의 차이가 큰 이유는 각 실험별로 한 개체만을 사용했기 때문에 개체간 차이에 의해 일어나는 현상이라고 추정되었다. 따라서, 정자와 알을 여러 성체에서 얻은 후, 그것들을 혼합하여 사용하면 변동계수의 폭은 줄이고 보다 안정적인 결과를 얻을 수 있으리라 예상되었다.

일반적으로 생물검정에 많이 이용되고 있는 생물종들의 발생률로 민감도 결과(Table 3)를 비교하였다. 먼저 각각의 생물종에 따라 발생시간이 다르다는 것을 알 수 있었다. 북쪽말뚝성게 배아의 구리에 대한 민감도는 이매패류인 *Mytilus galloprovincialis*, *Mytilus edulis*, *Ruditapes decussatus*보다는 덜 민감한 것으로 나타났다. 같은 이매패류인 *Crassostrea gigas*와는 비슷한 민감도를 나타내었고, 이매패류인 *Crassostrea iradalei*, 갑각류인 *Scylla seratta*, 명게류인 *Clona intestinals*보다는 더 민감하였다.

북쪽말뚝성게 배아와 같은 성게류인 *A. punctulata*와 민감도를 비교했을 때, 구리에 대해서는 비슷하였고, 나머지는 북쪽말뚝성게 배아가 더 민감하다는 결과를 보였다. 반면 OECD나 ASTM에 모두 포함

Table 3. Comparison of EC₅₀ value (µg/L) of metals among development bioassay with *S. intermedius* and other aquatic organism

Species	Exposure duration	EC ₅₀ (LC ₅₀) µg/L						Reference
		Cu	Ag	Zn	Cd	Cr	Ni	
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	96 h	6	15	23	510			Dinnel <i>et al.</i> (1989)
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	96 h	11						Bay <i>et al.</i> (1993)
<i>Paracentrotus lividus</i>	72 h	60		49	200	3,100	320	Volpi <i>et al.</i> (2003)
<i>Arbacia punctulata</i>	24 h	14	179	205	13,900			Nicci <i>et al.</i> (1986)
<i>Strongylocentrotus intermedius</i>	72 h	25.6	32.1	49.3	5,000	2,100	38.9	This study
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	48 h	16.6	6.8	139.2	1,797	786	68.1	Sung <i>et al.</i> (2006)
<i>Mytilus edulis</i>	48 h	5.8		175				Martin <i>et al.</i> (1981)
<i>Crassostrea gigas</i>	48 h	12	19	207	1,100			Dinnel <i>et al.</i> (1983)
<i>Crassostrea iradelei</i>	48h	81						Ramachandran <i>et al.</i> (1997)
<i>Ruditapes decussatus</i>	48 h	9.1		129	424			Beiras and Albentosa (2004)
<i>Scylla seratta</i>	48 h	80						Ramachandran <i>et al.</i> (1997)
<i>Ciona intestinalis</i>	20 h	46			839	10,296		Bellas and Vázquez (2003)

Table 4. Comparison of EC₅₀ value of Cu from developmental bioassays with Sea urchins

Species	EC ₅₀ (µg/L)	Reference
<i>Arbacia punctulata</i>	37	Waterman (1937)
<i>Dendraster excentricus</i>	33	Landis <i>et al.</i> (1993)
<i>Diadema setosum</i>	43	Ramachandran <i>et al.</i> (1997)
<i>Lytechinus variegatus</i>	34	Rumbold and Snedaker (1997)
<i>Paracentrotus lividus</i>	60	His <i>et al.</i> (1999)
<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>	21	Landis <i>et al.</i> (1993)
<i>Strongylocentrotus intermedius</i>	26	Present study
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	6.3	Landis <i>et al.</i> (1993)

된 *S. purpuratus*와 비교했을 때, 북쪽말뚝성게 배아는 모든 중금속에 대해서 민감도 값이 떨어진다. 결과를 확인 할 수 있었다. 하지만, 실험기간에 있어서 96시간보다 더 짧은 시간이 소요되는 장점을 가지고 있었다. 다른 종인 *Paracentrotus lividus*와 비교하면 아연과 크롬은 비슷한 민감도를 보였으나 카드뮴에 대해서는 둔감하였고, 나머지 중금속에 대해서는 더 민감하다는 것을 알 수 있었다.

북쪽말뚝성게와 가장 많이 연구되어 온 성게류에 대한 민감도를 구리노출에 따른 발생률 EC₅₀값으로 비교해 보았다 (Table 4). *Diadema setosum*, *Lytechinus variegatus*와 민감도를 비교하였을 때, 실험결과와 거의 유사한 민감도를 보였다. 그리고, USEPA, ASTM에서 시험생물로 정해진 성게류와 비교했을 때 *P. lividus*보다는 더욱 민감한 것으로 나타났고, *S. purpuratus*보다는 둔감한 것으로 나타났다. 반면, *A. punctulata*, *D. excentricus*, *S. droebachiensis*와는

비슷한 민감도를 보였다 (Table 4). 이상의 결과를 바탕으로 해양환경평가에서 북쪽말뚝성게의 발생과정을 이용한 평가는 시험기간적인 측면이나 민감도에 있어서 검정생물로 충분히 대체 가능하다는 결론을 얻을 수 있었다.

비록 USEPA, ASTM, OECD에서 제시하고 있는 생물과 비교했을 때 훨씬 민감한 종은 아니더라도 비슷한 민감도를 보였고, 물질에 대한 영향을 평가할 때 외국종이 아닌 국내종으로 평가할 수 있는 기초적인 자료를 확보했다는 것에 더 의미를 둘 수 있다고 판단된다. 더 나아가 국내산 성게를 이용하여 단순한 화학물질이 아니라 실질적인 해양환경에서 생물에게 미치는 환경오염물질의 영향에 대한 지침을 확립할 수 있을 것이고, 또한 앞으로 정부에서 해양환경을 보존하고 관리하는데 있어서 강력한 생물검정 도구로 사용할 수 있으리라 판단되었다.

감사의 글

이 논문은 2007년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (KRF-2007-313-D00413).

참고 문헌

- Anne Böttger S and James B. McClintock. The effects of organic inorganic phosphates on fertilization and early development in the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). *Compara. Biochem. and Physio. Part C: Toxicol and Pharm* 2001; 129(4): 307-315.
- ASTM. Standard guide for conducting static acute toxicity tests with echinoid embryos. E1563-95, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, 1995; 19 pp.
- Beiras R and Albentosa M. Inhibition of embryo development of the commercial bivalves *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* by trace metals; Implication for the implementation of seawater quality criteria. *Aquacul* 2004; 230: 205-213.
- Bellas J, Beiras R and Vázquez E. A standardisation of *Ciona intestinalis* (Chordata, Ascidiacea) embryo-larval bioassay for ecotoxicological studies. *Water Res* 2003; 37(19): 4613-4622.
- Calevro F, Campani S, Ragghianti M, Bucci S and Mancino G. Test of toxicity and teratogenicity in biphasic vertebrates treated with heavy metals (Cr^{3+} , Al^{3+} , Cd^{2+}). *Chemosphe* 1998; 37: 3011-3017.
- Chapman GA. Sea urchin fertilization test method, Newport, OR; U.S. EPA, ERL-Narragansett, Pacific Ecosystem Branch 1992; 1-35.
- Cherr GN, Shenker JM, Lundmark C and Turner KO. Toxic effects of selected bleached kraft mill effluent constituents on the sea urchin sperm cell. *Environ Toxicol Chem* 1987; 6: 561-569.
- Damásio J, Tauler R, Teixidó E, Rieradevall M, Prat N, Riva MC, Amadeu Soares MVM and Barata C. Combined use of *Daphnia magna* in situ bioassays, biomarkers and biological indices to diagnose and identify environmental pressures on invertebrate communities in two Mediterranean urbanized and industrialized rivers (NE Spain). *Aqua Toxicol* 2008; 87: 310-320.
- Dinnel PA, Link JM, Stober QJ, Letourneau MW and Roberts WE. Comparative sensitivity of sea urchin sperm bioassays to metals and pesticides. *Arch Environ Contam Toxicol* 1989; 18: 748-755.
- Dinnel PA, Stober QJ, Link JM, Letourneau MW, Roberts WE, Felton SP and Nakatani RE. Methodology and validation of a sperm cell toxicity test for testing toxic substances in marine waters. Final report Grant R/Tox-1, University of Washington, Seattle, WA. 1983; 208 pp.
- Geffard O, His E, Budzinski H, Seaman M and Garrigues P. Qualité biologique de l'eau de mer évaluée in situ par le test embryo-larvaire de *Crassostrea gigas* et *Mytilus galloprovincialis*: Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Serie III. Sciences de la Vie 2001; 324(12): 1149-1155.
- Girotti S, Elida NF, Maria GF and Elisabetta M. Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria. *Analytica Chimica Acta* 2008; 608(1): 2-29.
- Gulley DD and WEST, Inc. TOXSTAT 3.5. WEST Inc., Cheyenne, WY. 1996.
- Hamilton MA, Russo RC and Thurston RV. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. *Environ Sci and Tech* 1977; 11: 714-719.
- His E, Heyvang I, Geffard O and Montaudouin X. A comparison between oyster (*Crassostrea gigas*) and sea urchin (*Paracentrotus lividus*) larval bioassays for toxicological studies. *Water Res* 1999; 33(7): 1706-1718.
- Kobayashi N and Okamura H. Effects of heavy metals on sea urchin embryo development. 1. Tracing the cause by the effects. *Chemosphe* 2004; 55(10): 1403-1412.
- Landis WG, Hughes JS and Lewis MA. Status and applications of echinoid (Phylum Echinodermata) toxicity test methods. *Environmental Toxicology and Risk Assessment*, ASTM STP 1179, Philadelphia 1993; 281-302.
- Manzo S. Sea urchin embryo toxicity test; proposal for a simplified bioassay. *Ecotoxic Environ Saf* 2004; 57(2): 123-128.
- Martin M, Osborn KE, Bilig P and Glicksten N. Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and Cancer magister larvae. *Mar Pollu Bull* 1981; 12(9): 305-308.
- Nacci D, Jackim E and Walsh R. Comparative evaluation of three rapid marine toxicity test: Sea urchin early embryo growth test, sea urchin sperm cell toxicity test and Microtox. *Environ Toxicol Chem* 1986; 5: 521-526.
- OECD. Detailed review paper on aquatic testing methods for pesticides and industrial chemicals. OECD series on testing and assessment, number 11. ENV/MC/CHEM (98) 1998; 19/PART1, 260 pp.
- Ramachandran S, Patel TR and Colbo MH. Effect of copper

- and cadmium on three Malaysian tropical estuarine invertebrate larvae. *Ecotoxic Environ Saf* 1997; 36: 183-188.
- Ringwood HA. Comparative sensitivity of gametes and early developmental stages of a sea urchin species (*Echinometra mathei*) and a bivalve species (*Isognomon californicum*) during metal exposures. *Arch Environ Contam Toxicol* 1992; 22: 265-288.
- Rumbold DG and Snedaker SC. Evaluation of bioassays to monitor surface microlayer toxicity in tropical marine waters. *Arch Environ Contam Toxicol* 1997; 32(2): 135-140.
- Ryu TK, Sung CG, Han GM, Hwang IY, Lee TK and Lee CH. Optimal condition for the embryonic development of sea urchin, *Strongylocentrotus intermedius* for using the bioassay. *J Environ Toxicol* 2007; 22(3): 211-218.
- Soupilas A, Papadimitriou CA, Samaras P, Gudulas K and Petridis D. Monitoring of industrial effluent ecotoxicity in the greater Thessaloniki area. *Desalina* 2008; 224(1-3): 261-270.
- Sung CG, Kim GB, Seo JY, Lee CH, Ryu TK, Han GM, Choi JW and Kim YH. Optimal conditions for the embryonic development of mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Korean J of Malaco* 2006; 21(1): 25-31.
- Thatheyus AI and Selvanayagam M. Toxic effects of heavy metal nickel in the kidney of common carp, *Cyprinus carpio* var *communis* (L.). *Converg* 1999; 3: 99-102.
- USEPA. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to west coast marine and estuarine organisms. EPA/600/R-95/136 1995; pp. 389-465.
- Waterman AJ. Effect of salts of heavy metals on development of the sea urchin, *arbacia punctulata*. *Biol Bull* 1937; 73(3): 401-420.